

申请号: 97193506.8

公开号: CN 1217660A

应用共有干扰素再次治疗肝炎病人的方法

Method of using consensus interferon to retreat patients with hepatitis

Abstract:

Method of using effective dosage of consensus interferon in treatment of patients with HCV, and the patients are those whose ALT in serum is higher than normal value after treating with interferon.



申途

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>6</sup>

A61K 38/21

## [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 97193506.8

[43]公开日 1999年5月26日

[11]公开号 CN 1217660A

[22]申请日 97.1.13 [21]申请号 97193506.8

[30]优先权

[32]96.2.5 [33]US[31]08/595,440

[86]国际申请 PCT/US97/00340 97.1.13

[87]国际公布 WO97/27866 英 97.8.7

[85]进入国家阶段日期 98.9.29

[71]申请人 安姆根有限公司

地址 美国加利福尼亚州

[72]发明人 L·布拉特

M·克莱恩

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 齐曾度

权利要求书 1 页 说明书 11 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 应用共有干扰素再次治疗丙型肝炎病人的方法

[57]摘要

应用治疗有效量的共有干扰素再治疗 HCV 病人的方法,所述病人是先前用干扰素治疗后血清 ALT 高于正常上限值的病人。

ISSN 1008-4274

专利文献出版社出版

## 权 利 要 求 书

---

1. 再治疗 HCV 病人的方法, 所述病人已用某一种干扰素治疗过, 该方法包括给与病人治疗有效量的共有干扰素.
- 5       2. 根据权利要求 1 的方法, 其中所述的共有干扰素选自 IFN-con<sub>1</sub>、IFN-con<sub>2</sub> 和 IFN-con<sub>3</sub>.
3. 根据权利要求 2 的方法, 其中所述的共有干扰素为 IFN-con<sub>1</sub>.
4. 根据权利要求 1 的方法, 其中所述的共有干扰素是外源 DNA 序列在原核生物表达的产物.
- 10       5. 根据权利要求 1 的方法, 其中所述治疗有效量是通过口服、静脉内、肌肉内、皮下、鼻内或伤口内给药.
6. 根据权利要求 1 的方法, 其中所述有效治疗剂量是皮下注射 15 $\mu$ g, 每周 3 次, 疗程 24 周.
7. 使病人血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)正常化的方法, 所述病人  
15 为 HCV 病人并已用干扰素治疗过, 该方法包括给予所述病人治疗有效量的共有干扰素.

# 说明书

## 应用共有干扰素再次治疗丙型肝炎 病人的方法

5

本发明涉及用共有干扰素(IFN-com)再次治疗初次干扰素治疗无效或干扰素治疗停止后复发的患有丙型肝炎病毒(HCV)病人的方法。

### 发明背景

10

丙型肝炎病毒(HCV)是已知引起病毒性肝炎的五种病毒因子之一。HCV 是一种核苷酸序列和基因组结构类似于黄病毒属或瘟疫病毒属的小 RNA 病毒; Houghton 等, Hepatology, 14: 381, 1991. 感染 HCV 活动期病人血中存在 HCV-RNA, 后者可采用逆转录后再进行聚合酶链式反应扩增(RT-PCR)的敏感检测方法检测到; Weiner 等, Lancet, 335: 1, 1990. HCV 主要在(如果不是仅仅在)肝脏复制, 从而引起急性和慢性肝炎。

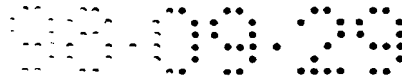
15

20

25

据疾病控制及预防中心估计, 在美国每年由 HCV 引起急性肝炎的新病例有 16 万。尽管大多数病人无症状, 当这些病人中大约 25% 的病人可能进一步发展出现黄疸或其它肝炎症状, 高达 70% 的这些病人可能演变为慢性肝脏疾病, 正如血清丙氨酸转氨酶(ALT)水平的持续升高以及持续存在循环性 HCV-RNA 所证实的。此外, 已有充分文献资料表明 HCV 感染演变为肝细胞癌; Tong 等, WJM, 160,2:133-138, 1994. 由疾病控制中心进行的流行病学研究提示因为输血传播的 HCV 感染仅占 4%, 血液透析传染占 3%, 性传染占 10%, 静脉用药传染占 35%, HCV 传染机制不明的病例占 48%。

干扰素是既有抗病毒又有抗增殖活性的细胞因子亚类。根据生化和免疫特性, 天然产生的人干扰素分为三类:  $\alpha$ -干扰素(白细胞),  $\beta$ -干扰素(成纤维细胞)和  $\gamma$ -干扰素(免疫)。通过对编码干扰素多肽的 DNA

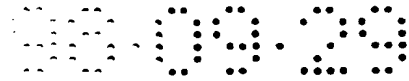


进行分离和序列分析, 至少已鉴定了 14 种氨基酸顺序不同的 $\alpha$ -干扰素(分为 A-H 亚型)。由于 $\alpha$ -干扰素的抗病毒和抗肿瘤生长抑制, 它们作为潜在治疗药剂已受到极大关注。

5 美国专利 4,695,623 号和 4,897,471 号公开了新型人干扰素多肽, 所述干扰素的氨基酸序列含有天然产生的 $\alpha$ -干扰素亚型多肽每一位点上发现的共同或占优势的氨基酸, 因此所述干扰素被称之为共有干扰素(IFN-con)。公开的氨基酸顺序命名为 IFN-con 有 IFN-con<sub>1</sub>、IFN-con<sub>2</sub> 及 IFN-con<sub>3</sub>。也公开了编码 IFN-con 的工程基因的制备及所述基因在大肠杆菌中的表达。在大量基础上比较时, 重组 IFN-con 与或者白细胞  
10 干扰素或其它重组 I 型干扰素比较的体外研究证实, IFN-con 表现出显著高的抗病毒、抗增殖及天然杀伤细胞活性; Ozes 等, *J Interferon Research*, 12: 55-59, 1992。

美国专利 5,372,808 号公开了应用共有干扰素治疗疾病的方法。当 IFN-con 用于治疗对 $\alpha$ -干扰素治疗敏感的疾病时, 它在病人中引起的  
15 副作用程度与 $\alpha$ -干扰素不同。并且表明, 可以使用高 3-5 倍剂量的 IFN-con, 导致治功效果增强, 大体上不相应地引起不期望的副作用发生率或严重程度。

HCV 是食品和药物管理局已经批准的干扰素的几个临床适应症之一, 且目前已批准允许 $\alpha$ -干扰素用于慢性 HCV; Hoofnagle 等, 干  
20 扰素: 原理与医学应用(*Interferon: Principles and Medical Applications*), 第 1 版, 第 31 章, 第 433-462 页, 1992 年。IFN- $\alpha$  治疗期间发生的反应类型的特征可以为: (1) 持续完全反应(“持久的”), 即病人血清的 ALT 值在治疗的第一个月内即开始下降, 常常到第 2-3 月时降为正常, 且即使治疗停止后仍然维持正常(这些病人的血清 HCV RNA 也可能变成阴性); (2) 暂时完全反应, 然后治疗终止使出现复发(“复发”);  
25 (3) 部分或暂时反应, 即病人血清 ALT 值降低但变为正常, 或暂时变得正常, 尽管继续干扰素治疗 ALT 仍再次升高(“部分反应”); 和(4) 无反应, 即干扰素治疗期间病人血清 ALT 仍然持续高水平(“无反应”)。



应用产生临床效力的足够量(即每次治疗剂量为  $1 \times 10^6$  单位和更高剂量)的 $\alpha$ -干扰素治疗通常伴随出现“流感样”症状,特征为发烧、头痛、昏睡、关节痛及肌痛; Tying 等, 干扰素: 原理与医学应用 (Interferon: Principles and Medical Applications), 第1版, 第8部分, 第399-408页, 1992年。在更高剂量下, 即  $5-10 \times 10^6$  单位/治疗和更高, 出现其它毒性的频度更高且可能呈剂量限制性。这些作用包括恶心、呕吐、腹泻及厌食; 文献同上, 第403页。与高剂量给药相关的实验室指标的变化包括白细胞及血小板相对减少, 血清肝脏酶水平升高; 文献同上。

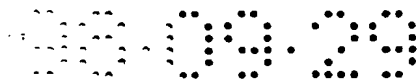
$\alpha$ -干扰素治疗慢性 HCV 的推荐用法为: 每次剂量 3-5 MU, 每周 3 次, 或者皮下注射或肌肉注射, 疗程 6-12 个月; 参见例如 Davis 等, *N Engl J Med.*, 321: 1501-1506, 1989; Marcellin 等, *Hepatology*, 13: 393-397, 1991; Causse 等, *Gastroenterology*, 101:497-502, 1991; Linsey 等, *Hepatology*, 18: 106a, 1993。一般来说, 大约 50%的 $\alpha$ -干扰素治疗的病人在治疗结束时血清 ALT 浓度正常。然而,  $\alpha$ -干扰素治疗停止后, 50-100%的所述有反应病人复发, 导致“持久”型 ALT 反应率为 0-25%, “复发”型反应率亦为 0-25%。不幸的是, 没有可靠的方法预测哪些病人对 $\alpha$ -干扰素治疗的可能反应及哪些病人会是“持久”型反应。

鉴于与 $\alpha$ -干扰素治疗慢性 HCV 的有关的缺点, 研究人员已经开始提高慢性 HCV 的反应率, 几种尝试方法集中在使用较高剂量。这些研究的报告, 较高剂量的 $\alpha$ -干扰素(即 5-10 MU TIW 到每天 1 次)可以提高长期 ALT 反应率; 参见例如 Linsey 等, *Hepatology*, 18:106a, 1993; Hoofnagle 等, *N Engl J Med.*, 315:1575-1578, 1989; Kakumu 等, *Am J Gastroenterology*, 85:655-659, 1990。然而, 由于伴随毒性的增加, 这些较高剂量难以坚持, 而且使用每日高达 10 MU 剂量的研究治疗只能在住院进行该治疗的病人中进行; Iino 等, *Dig Dis Sci.*, 38: 612-618, 1993。

其它的尝试集中在 $\alpha$ -干扰素的再治疗性疗法上。例如, Toyoda







常病例的比率。

Schvarcz 等(*Scand J Infect Dis.*, 23: 413-420, 1991)报道了用增加剂量的干扰素治疗“无反应”病人的结果。6例“无反应”病人已用 3 MU  $\alpha$ -2b 干扰素每周三次(t.i.w), 用 6 MU t.i.w 再次治疗至少 8 周。Schvarcz 等报道了在用较高剂量再次治疗过程中, 无一例“无反应”病人血清 ALT 转为正常。而且随着剂量的增加, 副作用显著增加。

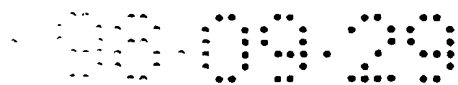
Arase 等(*J. of Gastroent.*, 29: 299-304, 1994)研究了用人淋巴母细胞源  $\alpha$ -干扰素再次治疗  $\beta$ -干扰素初次治疗无反应的病人的结果。具体地说, Arase 等研究了再次治疗功效与初次治疗后血清 ALT 水平的关系的结果, 结论是对于 III 亚型 HCV 或暂时血清 ALT 正常化的病人, 和在初次治疗期间或之后血清 HCV-RNA 阴性的病人, 高剂量(6 MU)和较长时间的再次给予  $\alpha$ -干扰素可能是有价值的对策。然而对于 II 亚型 HCV 或血清 HCV-RNA 持续阳性和初次治疗中或之后血清 ALT 异常的病人, 应用  $\alpha$ -干扰素进行再次治疗可能无效。

综述以上文献, 似乎是  $\alpha$ -干扰素再次治疗对于“复发”病人具有有限的功效, 对于“无反应”病人的益处如果有的话也很少。更为重要的是, 再次治疗不能用来提高血清 ALT 长期维持正常(即“持久”反应)的百分率。因此很清楚, 需要治疗 HCV 的新方法或  $\alpha$ -干扰素治疗改进法。所以, 本发明的目的是提供一个用 IFN-con 再治疗 HCV 病人的方法, 从而使“持久”型反应率提高。

#### 发明概述

本发明包括应用治疗有效量的 IFN-con 再次治疗  $\alpha$ -干扰素治疗无反应或  $\alpha$ -干扰素治疗停止后复发的 HCV 病人的方法。本发明的基础是发现用 IFN-con 再次治疗 HCV 病人引起复发和/或无反应病人的反应率约 46%, 以及再次治疗可以用来提高持久的 ALT 正常化的比率。

IFN-con 是一种具有抗增殖活性的非天然产生的多肽。最好是 IFN-con 为具有 IFN-con<sub>1</sub>、IFN-con<sub>2</sub> 或 IFN-con<sub>3</sub> 的氨基酸序列的多肽。



IFN-con 最好具有 IFN-con<sub>1</sub> 的氨基酸序列。

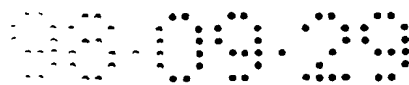
### 本发明的详细说明

5 本文所用的人共有干扰素(IFN-con)是指一种非天然产生的多肽，它主要包括大多数天然产生的人白细胞干扰素亚型序列的 $\alpha$ -干扰素典型亚组共有的那些氨基酸残基；它在对所有亚型没有共同氨基酸的一个或多个位点上包括在该位置上主要发生的氨基酸，无论何时都不包括在至少一种天然产生的亚型中该位置上不存在的任何氨基酸。  
10 IFN-con 包括(但不限于)美国专利 4,695,623 号和 4,897,471 号公开的 IFN-con<sub>1</sub>、IFN-con<sub>2</sub> 及 IFN-con<sub>3</sub>，该专利的整个说明书通过引用结合到本文中。编码 IFN-con 多肽的 DNA 序列可根据上述专利所述或其它标准方法合成。

15 IFN-con 多肽最好是转化或转染到细菌宿主(尤其是大肠杆菌)中的制备的 IFN-con DNA 序列表达的产物。这就是说 IFN-con 是重组 IFN-con。IFN-con 最好是在大肠杆菌中生产，并用本领域技术人员已知的方法和 Klein 等(*J. Chromatog.* 454: 205-215, 1988)一般描述的方法进行纯化。据报道按此方法纯化的 IFN-con<sub>1</sub> 的比活为  $3 \times 10^9$  单位/mg 蛋白质，该比活检测是利用人 T98G 细胞系进行的细胞病变效应抑制检测法测定的；Fish 等, *J. Interferon Res.* 9, 97-114 (1989)。

20 题述发明为应用治疗有效量的 IFN-con 再治疗 IFN-a 治疗无反应或 IFN-a 治疗有反应但治疗停止时又复发的 HCV 病人的方法。本发明推荐实施例是涉及给予治疗有效量的 IFN-con<sub>1</sub>、IFN-con<sub>2</sub> 或 IFN-con<sub>3</sub> 再治疗的方法。更优选的是，给予治疗有效量的 IFN-con<sub>1</sub>。最优选皮下注射 15 MU IFN-con<sub>1</sub>，每周三次，疗程为 24 周或 48 周。

25 在下面提供的实施例 1 中表明，在干扰素治疗无反应或干扰素治疗停止时复发病人中 IFN-con<sub>1</sub> 是有效的，引起的反应率约 46%。更重要的是，表明 27% 的再治疗病人获得“持久”反应。提供该实施例是为了更全面地说明本发明，而不应解释为限定本发明范围。



## 实施例 1

### 给与已用干扰素治疗过的

### 具有 HCV 病人 IFN-con<sub>1</sub> 的功效

5 采用随机、开放标记、多中心研究以确定用 IFN-con<sub>1</sub> 再治疗具有 HCV 病人的功效，所述病人表现出经干扰素治疗后血清 ALT 值仍高于正常上限，即为“复发”或“无反应”病人。在 IFN-con<sub>1</sub> 再治疗过程中通过检测血清 ALT 值变化评价其功效。此外，该研究还证明了用 PCR 分析测定的 IFN-con<sub>1</sub> 再次治疗的反应持久性及其对 HCV RNA 的作用。该研究分为独立并存的两组：A 组(再治疗)和 B 需(仅仅是观  
10 测)。

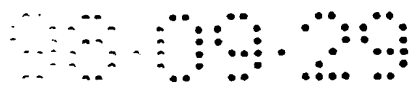
#### A. 产品说明

IFN-con<sub>1</sub> 是采用美国专利 4,695,623 号和 4,897,471 号所述方法在大肠杆菌生产的。用 Klein 等(见上述, (1988))一般描述的方法纯化  
15 IFN-con<sub>1</sub>。对于本研究中的皮下注射，IFN-con<sub>1</sub> 以透明、无色、无颗粒的无菌蛋白液供应，并在水性缓冲液配制后进行过滤除菌以及装瓶。重组 IFN-con<sub>1</sub> 纯度不低于 95%。

#### B. 病人选择

20 本研究中约有 431 例病人完成了 Amgen Inc. 的 CIFN-9210 方案。CIFN-9210 是一双盲、随机、阳性对照的多中心研究，目的是确定与 15μg (3 MU) Intron® A (Schering-Plough) 比较，给与 3μg (3 MU) 和 9μg (9 MU) 两个剂量水平的 IFN-con<sub>1</sub> 的功效。比较了反应的持久性、治疗前后病人血清 HCV RNA、肝脏组织学、干扰素抗体的形成以及生命质  
25 量的变化。

要符合 CIFN-9210 的条件，病人必需是 18 岁以上的 HCV RNA 阳性、骨髓及器官功能正常及 ALT 高于正常上限 1.5 倍的慢性 HCV 病人。将符合条件的病人随机分为 3μg IFN-con<sub>1</sub>、9μg IFN-con<sub>1</sub>、15μg



Intron® A 组, 给药方法为皮下注射, 每周三次, 疗程 24 周。之后观察病人 24 周。

ALT 功效反应标准如下: (1)完全反应(ALT-CR), 是指每月检测一次 ALT, 在双盲治疗期间的任何时间 ALT 下降至低于或等于正常上限, 并且至双盲治疗结束时维持低于或等于正常上限; (2)接近完全反应(ALT-NCR), 是指每月检测 ALT 一次, 在双盲治疗期间的任何时间 ALT 值下降至小于或等于正常 ALT 上限的 1.5 倍, 并至治疗结束时维持小于或等于正常 ALT 上限的 1.5 倍; (3)部分反应(ALT-PR), 是指在双盲治疗期间的任何时间 ALT 下降至小于或等于基线的 50%, 但是低于或等于正常上限的 1.5 倍。所述降低到双盲治疗结束时必须维持小于或等于基线的 50%, 但是低于或等于正常上限的 1.5 倍; 和(4) 不符合以上限定标准的任何反应都被认为无反应(ALT-NR)。

在 CIFN-9210 研究方案中评价了治疗结束后 24 周观察期结束时血清 ALT 值高于正常上限病人的功效, 并评价了 CIFN-9210 研究结束时血清 ALT 正常但四年内 ALT 继发升高超过正常上限病人的功效。

### C. 再治疗方法

#### 治疗 A 组

合格病人在完成方案 CIFN-9210 研究后大约 28 天内进行登记注册。间隔至少 2 周的连续 2 次检测 ALT 均高于正常上限值的病人进行登记, 并按 1:1 比例随机接受 15 $\mu$ g IFN-con<sub>1</sub> 的 24 周或 48 周的治疗。皮下注射研究药物, 每周 3 次, 间隔时间至少为 48 小时。整个研究过程中对病人监测研究药物的安全性、功效和耐受性。在 24 周或 48 周治疗结束时和治疗后 24 周观察结束时测定反应。

开始再治疗三个月内血清 ALT 未能下降至 1.5 倍正常上限值以下或至少降低开始治疗时基线值的 50%的病人将退出本研究。而且随机接受 48 周再治疗的病人, 假如到 24 周时研究者认为继续再治疗无益处时, 其中某些病人撤出本研究。



经历研究人员判定可能、很可能或一定与研究药物有关的不可耐  
受的 2 级毒性、3 级毒性或 4 级中性粒细胞减少症(世界卫生组织建立  
的标准和 Miller 等进一步说明的(*Cancer* 47: 210-211, 1981))的病人不  
给与其剂量的药物, 直至研究人员判定药物毒性为可耐受的 2 级毒性  
或 2 级以下。重新开始表 1 所示的下一个较低剂量的研究药物。

表 1  
因毒性作用而需要降低的 IFN-con<sub>1</sub> 剂量

毒性**	剂量 (μg) IFN-con <sub>1</sub>	注射体积 (ml)
无	15	0.5
第 1 级	12	0.4
第 2 级	9	0.3
第 3 级	6	0.2
第 4 级	3	0.1

\*\*经历降低多于 4 个剂量的病人退出研究。

假如病人需要降低 4 个以上的剂量或者病人出现被认为与研究药  
物相关的不可耐受的 2 级或 3 级毒性(中性粒细胞减少症除外)并持续  
14 天以上时, 所述病人退出本研究。病人出现 4 级毒性(中性粒细胞减  
少症除外)也需退出本研究。完成 24 周或 48 周再治疗的病人将继续进  
行长达四年的治疗后观察。

#### 治疗 B 组

在完成 CIFN-9210 研究(第 60 周)后的 28 天内血清 ALT 小于或等  
于正常上限的病人登记编入 B 组, 并继续长达四年的跟踪观察反应的  
持久性(血清 ALT 维持在正常范围的时间)和复发时间(血清 ALT 高于  
正常上限的时间)。当病人复发时, 对其进行新的随机编号并归入前述



的 A 再治疗组.

#### D. 结果

5

表 2

15 $\mu$ g IFN-con<sub>1</sub> 再治疗后 ALT 正常病人的百分率

初次治疗 组别*	治疗时间 第 24 周
Intron <sup>®</sup> A (15 $\mu$ g)	43% (28/65)
IFN-con <sub>1</sub> (3 $\mu$ g)	42% (25/59)
IFN-con <sub>1</sub> (9 $\mu$ g)	54% (26/48)

\*代表初次治疗该组所用的干扰素类型及剂量

如上表 2 所示, 15 $\mu$ g IFN-con<sub>1</sub> 每周 3 次持续 24 周再治疗病人的完全 ALT 反应率为 42%-54%。上述结果证明 IFN-con<sub>1</sub> 再治疗有效地使以前干扰素治疗无反应或治疗停止时复发的病人获得完全反应。

10

表 3

15 $\mu$ g IFN-con<sub>1</sub> 再治疗后“持久”反应功效病人的百分率

初次治疗 类别*	治疗停止后的时间 第 12 周
Intron <sup>®</sup> A (15 $\mu$ g)	25% (16/65)
IFN-con <sub>1</sub> (3 $\mu$ g)	25% (15/59)
IFN-con <sub>1</sub> (9 $\mu$ g)	33% (16/48)

\*代表初次治疗该组所用的干扰素类型及剂量

15

如上表 3 所示, 用 15 $\mu$ g IFN-con<sub>1</sub> 每周 3 次持续 24 周再治疗导致“持久”反应率为 25%-33%。该数据证明与以前报道的治疗和/或再治疗方法相比, IFN-con<sub>1</sub> 再治疗提高了慢性 HCV 病人的“持久”反应

率。

尽管通过所述优选实施例描述了本发明，但是应该理解，本领域技术人员会想到其变化及修改。因此，所附的权利要求书将包括在本发明要求保护范围内的所有这类等效的变化。

